

고농도의 포도당에 의한 사람 복막 중피 세포의 MCP-1 합성에 미치는 protein kinase C의 역할

이희발¹, 유미라², 박민선¹, 하현주²

순천향대학부설 현암신장 연구소¹; 연세대학교 의과대학 약리학 교실²

단핵구에 특이성이 높은 화학 주성 인자인 단핵구 화학 주성 단백 (monocyte chemotactic protein; 이하 MCP)-1은 단핵구를 염증 부위로 유입하고 축적하는데 중요한 역할을 한다. 고농도의 포도당은 세포내에서 대사되면서 diacylglycerol 합성을 증가시키므로써 protein kinase C (이하 PKC)를 활성화 한다. PKC는 MCP-1의 합성을 조절하는 세포내 여러 조절 인자들 중의 하나이다. 본 연구에서는 고포도당이 사람의 복막 중피 세포 (human peritoneal mesothelial cells; 이하 HPMC)의 MCP-1의 합성에 미치는 영향을 알아보고 나아가 이에 관여하는 PKC의 역할을 검색하고자 하였다. 10% 우태아 혈청을 함유한 배양액 199를 이용하여 사람에서 분리한 망(omentum)으로부터 HPMC 배양계를 수립하였고, 혈청 배제 배양액에서 배양한 휴지기의 HPMC를 5.6 mM (대조 포도당) 또는 50 mM (고포도당) 포도당이나 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, PKC 활성화제)에 3-48 시간 동안 노출시켰다. MCP-1의 mRNA 표현과 단백질 합성을 각각 Northern blot 분석과 ELISA로 측정하였다. 또한 단핵구에 대한 화학 주성 실험을 수행하여 고포도당에 의해서 생물학적으로 활성이 있는 MCP-1의 생산이 증가하는지도 관찰하였다. HPMC를 고포도당에서 배양하면 대조 포도당과 비교할 때 MCP-1 mRNA는 1.5 배, MCP-1 단백질은 1.4 배 (ELISA)와 1.9 배 (단핵구에 대한 화학 주성 실험) 증가하였다. PMA 역시 HPMC의 MCP-1 mRNA 표현 (3.2 배)과 단백질 합성 (1.9 배)을 증가시켰다. PMA에 24 시간 노출시키므로써 HPMC의 PKC를 고갈시키면 PMA나 고포도당에 의한 MCP-1 합성 증가가 관찰되지 않았다. 또한 PKC 억제제인 calphostin C도 고포도당에 의한 MCP-1 합성 증가를 유의있게 억제하였다. 이상의 결과로 미루어 고포도당은 HPMC의 MCP-1 합성을 증가시키고 고포도당에 의한 MCP-1 합성 증가에는 PKC가 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

C16

복막 중피 배양 세포의 transforming growth factor- β (TGF- β) 발현에 관한 연구

이화여자 대학교 의과대학 내과학 교실
강덕희*, 최진희, 최규복, 윤건일

CAPD 환자들에서 복강내의 mesothelial cell (이하 MC)은 지속적으로 비생리적인 조성-고포도당, 고유산염, 높은 산도 등-의 복막 투석액에 노출되어 MC에 형태적, 기능적 변화가 초래됨은 이미 잘 알려져 있는 사실이다. TGF- β 는 세포 증식과 세포의 기질 합성의 조절에 결정적인 역할을 하는 물질로 혈관 내피세포, 외피세포, 사구체 계산지음 세포 등의 증식을 억제하고 조직의 섬유화 유발에 관여한다. 따라서, 통용되는 복막 투석액의 고포도당 농도 또한 복강내의 MC의 TGF- β 발현을 증가시키고 이는 복막의 섬유화에도 연관이 있을 것으로 예측되나 이에 대해서도 뚜렷한 연구 결과가 없는 실정이다.

본 연구에서는 망조직으로부터 배양하여 confluency에 이른 MC를 48시간 동안 혈청을 제한시킨 media에서 배양한 후 48시간 동안 다양한 조성의 배양액과 투석액에 노출시켜 MC의 TGF- β mRNA의 발현을 Northern blot 방법으로 측정 하고 IL-1 β (1 ng/ml) 및 TNF- α (1 ng/ml)로 자극한 경우의 변화에 관해 조사 하였다. TGF- β 단백질의 합성은 세포 배양 상층액에서 Western blot 방법으로 측정하였다.

1. 30, 60 및 90 mM/L의 D형 포도당 용액에서 배양한 경우 포도당 농도가 증가함에 따라 MC의 TGF- β mRNA의 발현과 단백질 합성이 의의 있게 증가하였다.
2. 복막 투석액은 노출 10분과 30분에 MC의 TGF- β mRNA 발현을 증가시켰으나 이후부터는 control 배지에 비해 의의 있는 증가는 없었다.
3. 환자의 복강에서 배액된 투석액은 노출 48 시간 후 TGF- β mRNA의 발현을 증가시켰다.
4. Control media와 함께 IL-1 β 로 자극한 경우 TGF- β mRNA과 단백질의 발현은 현저하게 증가되었다.
5. Control media와 TNF- α 로 자극한 경우 TGF- β mRNA의 발현은 증가되었으나 MC 배양 상층액의 단백질 농도 증가는 없었다.

이상의 결과로 고포도당 농도를 포함한 투석액의 조성은 MC의 TGF- β 발현을 증가시키고 복막염과 같이 복강내의 cytokine 농도가 증가될 경우 더욱 현저할 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 MC의 TGF- β 발현 증가는 장기간에 걸친 복막 투석시 특히, 복막염이 빈발하는 경우 복막 섬유화 및 경화화 연관이 있을 것으로 생각된다.